

Asociación Entre Los Valores De RANTES y la Clínica En
Pacientes Con Rinitis Alérgica

María Carolina Pérez Perdomo
Residente de otorrinolaringología

Tutores

Dr. Omar Gutiérrez- Dr. Gustavo Cuadros
Departamento otorrinolaringología-Hospital universitario de la
Samaritana

Universidad colegio mayor de nuestra señora del rosario
Hospital Universitario de la Samaritana
Facultad de medicina – Departamento quirúrgico
Bogotá, Julio 2012

TABLA DE CONTENIDO

1. Resumen
2. Introducción y Planteamiento del Problema
3. Pregunta de Investigación
4. Justificación
5. Marco Teórico
6. Objetivos
7. Metodología
8. Materiales y Métodos
9. Control de Sesgos
10. Aspectos éticos
11. Cronograma de Actividades
12. Presupuesto y personal
13. Resultados
14. Discusión
15. Conclusiones
16. Referencias
17. Anexos

RESUMEN

Objetivo: El siguiente estudio tiene como objetivo determinar, los valores de RANTES, posterior a la exposición a ácaros, para evaluar su asociación con la escala ARIA, en el grupo de pacientes seleccionado. *Diseño:* Estudio descriptivo correlacional, *Materiales y Métodos:* Se incluyeron 17 pacientes que consultaron por Rinitis Alérgica al Hospital de la Samaritana entre el 01 Julio del 2010 y el 01 Julio del 2011, y que cumplieron los criterios de selección, de los cuales se obtuvieron 34 muestras de lavados nasales posterior a provocación intranasal con ácaros. *Resultados:* Los pacientes mostraron mayor tendencia a pertenecer al grupo de síntomas de mayor severidad y frecuencia según la escala ARIA. Los valores de RANTES encontrados en lavados nasales tuvieron un promedio de 8,1 pg/ml (+/- 19DS). *Conclusión:* Se encontró una positividad en los valores de la citoquina CCL5 en los lavados nasales del 20% de los pacientes. El coeficiente de correlación obtenido, muestra una asociación débil.

INTRODUCCION

La rinitis se define como una inflamación de la mucosa de la nariz y se caracteriza por síntomas nasales como rinorrea anterior o posterior, estornudos, bloqueo nasal y / o picazón de la nariz. Estos síntomas se producen durante dos o más días consecutivos de más de 1 hora casi todos los días. (1). La rinitis alérgica es un problema de salud pública, que incrementa su prevalencia de forma importante en los últimos años (2). Los factores desencadenantes son claramente descritos, la respuesta a exposición a alérgenos es generada por aumento de eosinófilos y de sustancias que producen ellos mismos, todo mediado por IgE (3). La reacción inflamatoria mediada por IgE, se caracteriza por

reacciones que se dan en dos fases, temprana y tardía (4), donde según la capacidad de respuesta del organismo, se generan las citoquinas que median la respuesta inflamatoria. Los síntomas generados se puede controlar de forma satisfactoria en muchos pacientes, sin embargo la variabilidad sintomática es grande y los factores asociados a ésta variabilidad son objeto de estudio.

El no contar con el conocimiento de la respuesta inmunológica de los pacientes con rinitis alérgica en nuestro medio es un impedimento para el avance en el tratamiento de la patología, así como la futura prevención del desarrollo de la misma en futuras generaciones.

PREGUNTA DE INVESTIGACION

Están los niveles de RANTES, correlacionados a la severidad cada paciente con rinitis alérgica?

JUSTIFICACION

La rinitis alérgica es un problema de salud pública (2) y se ha visto de esta forma tanto en nuestro país como en el resto del mundo. Su incidencia crece anualmente y los factores relacionados con el desarrollo y exacerbación de la enfermedad son cada vez más esclarecidos. La correlación de los factores inmunológicos están citados en múltiples estudios (5,6,7,8,9,10,11,12) sin embargo, es claro que no existe un consenso en los resultados de dichos estudios en el ámbito inmunológico. Al respecto, hay resultados contradictorios y no existen estudios en nuestro país que permitan determinar el perfil

inmunológico de los pacientes con rinitis alérgica sensibles al alérgeno más comúnmente encontrado que son los ácaros.

Las citoquinas más comúnmente asociadas a la enfermedad son RANTES y eotaxina, por medio de la IL4 son las responsables de la perpetuación de la inflamación, disminuyendo el umbral de degranulación del mastocito, aumentando la quimiotaxis de eosinófilos y a su vez la producción de más citoquinas, vasodilatación y se forma un círculo vicioso en la cascada inflamatoria(4)

Por lo anterior se decide realizar éste estudio, con el objetivo de determinar el valor inicial de RANTES, de pacientes diagnosticados con rinitis alérgica, sensibles clínicamente a ácaros, sometidos a una provocación intranasal, observando la respuesta inmunológica de la fase temprana de la enfermedad. Con éstos resultados se pueden llevar a cabo futuros estudios, para completar el perfil inmunológico de dichos pacientes y así tener resultados en cuanto a tratamiento, clasificación y abordaje de estos pacientes.

A futuro busca investigar los valores de otros marcadores para completar un perfil inmunológico. Lo anterior incluye determinación de eotaxinas, IL-5, proteína eosinofílica y neutrofílicas.

MARCO TEÓRICO

La rinitis se define como una inflamación de la mucosa de la nariz y se caracteriza por síntomas nasales como rinorrea anterior o posterior, estornudos, bloqueo nasal y / o

picazón de la nariz. Estos síntomas se producen durante dos o más días consecutivos de más de 1 hora casi todos los días. (1) La rinitis alérgica se define clínicamente como un trastorno sintomático de la nariz inducida después de la exposición a alérgenos por una inflamación mediada por IgE (3). Se subdivide en intermitente (RAI) o persistente (RAP) según su frecuencia, y la gravedad se puede clasificar como leve o moderada-severa, según afecte o no la vida laboral o escolar y social. (1)

La importancia de la rinitis alérgica no debe ser subestimada. Dentro de sus comorbilidades se encuentra el riesgo alto de desarrollar asma bronquial subsecuente, además los beneficios que en materia de bienestar o calidad de vida se alcanzan al estar con tratamiento adecuado, ya que la enfermedad no controlada produce francas restricciones físicas, psicológicas, sociales y de trabajo (2).

Esta enfermedad se caracteriza por un marcado aumento de eosinófilos en la submucosa nasal y en el epitelio. Los Eosinófilos han sido implicados como principales células efectoras en la patogénesis de la rinitis alérgica. Particularmente la acumulación de eosinófilos en la mucosa alérgica surge de la influencia de varias citoquinas Th2 incluyendo IL3, IL4, IL5 y Eotaxina (3).

La reacción inflamatoria mediada por IgE, se caracteriza por reacciones que se dan en dos fases, temprana y tardía, asociadas a efectos vasodilatadores producidos por acción de neuropeptidos (4).

Las quimiocinas son un grupo de citoquinas quimo-atrayentes, que se han dividido en cuatro subfamilias de acuerdo a la posición de uno o dos residuos de cisteína ubicado cerca de la terminal amino de la proteína (CXCL, CCL, CL y CX3CL). Entre las citocinas incluidas en el grupo de CCL se encuentran los RANTES “Regulated upon

activation normal T cell expressed and secreted”, proteínas quimiotácticas de monocitos (MCP) 2,3 y 4, y las eotaxinas 1,2y 3 (CCL11) (5).

RANTES y MCP 3 y 4 son quimiotácticos para los eosinófilos, monocitos y linfocitos, mientras que las eotaxinas son quimioatrayentes de eosinófilos, basófilos y los linfocitos del tipo de células T-helper 2 (Th2). RANTES y MCP-1 son ambas quimocinas secretadas por los monocitos, macrófagos, células epiteliales y endoteliales, fibroblastos y los mismos eosinófilos (4,5).

La activación de las células T inducido por RANTES es seguido por diversos efectos, incluyendo proliferación de células T y la liberación de citoquinas pro-inflamatorias, como la interleucina-2, IL-5, interferón- γ y el MIP-1 β (6,7). Al respecto, E. Rojas-Ramos, y cols llevaron a cabo mediciones de RANTES, MCP 3 y 4 y eotaxinas 1 y 2 en pacientes con asma bronquial con muestras de lavados bronquiales, obteniendo como resultado que RANTES fue la quimiocina con mayor valor; Las concentraciones de esta citocina fueron de 4,2 y 7,7 veces mayor en comparación con eotaxina-1 y MCP-4, respectivamente (4).

Piotr Kuna y cols (6) demostraron in vivo, que RANTES provocó un flujo de células inflamatorias en la mucosa nasal, de 12 pacientes alérgicos que fueron expuestos a alérgenos(incluidos el polen de pasto, de arboles, dermatophagoides pteronyssinus, plumas y cladosprium) y posteriormente a una dilución de RANTES, los cuales produjeron atracción de eosinófilos, linfocitos y monocitos, en la respuesta temprana de la enfermedad la cual se presento en un promedio de 2 a 4hs post exposición.

Por otra parte, en la literatura hay mediciones de las proteínas citotóxicas liberadas por el eosinófilo en pacientes alérgicos que han sido expuestos a alérgenos comunes como ácaros y animales, para investigar sintomatología y/o respuesta a tratamiento. (6,7,8,9,10,11,12). Estos alérgenos varían según donde fue realizado el estudio y la sensibilidad del paciente. También existen múltiples formas de obtener lecturas de las citoquinas en la mucosa nasal, una de las formas de hacerlo es mediante lavado nasal que se ha usado en varios estudios pero sin una forma estandarizada, incluso algunos utilizan dispositivos especiales de lavado nasal (13) para aumentar el tiempo de contacto del líquido con la mucosa.

Existen cuatro principales proteínas citotóxicas que son reconocidas en los gránulos de eosinófilos; La proteína básica mayor (MBP), proteína catiónica de eosinófilos (ECP), peroxidasa de eosinófilos (EPO), y la proteína eosinofílica X/ derivada de la neurotoxina de eosinófilos (EPX / EDN) (14).

Nielsen LP y cols, encontraron que durante la temporada de exposición a polen de pasto se aumentan los niveles de peroxidada y de proteína catiónica del eosinófilo medidas en sangre y lavados nasales, lo cual muestra indirectamente el grado de activación del eosinófilo. (15)

Piotr Kuna y cols (16) realizaron mediciones de IL-8, proteína inflamatoria del macrófago (MIP) , RANTES, histamina y proteína catiónica eosinofílica en 18 pacientes con rinitis alérgica de más de 3 años de evolución, sensibles a *Dermatophagoides*

pteronysinus. Sus resultados muestran niveles elevados de histamina y de ECP, sin embargo, no cuantificaron RANTES ni MIP-1 ya que los valores eran demasiado bajos y por lo tanto no se logro inferir su relación con la quimiotaxis de los eosinófilos y la activación, Sin embargo, la estrecha asociación de los niveles de ECP con los niveles de histamina implica la presencia de eosinófilos y basófilos.

Así mismo, Alexander C. Ferguson y cols (17) unos pocos años atrás, realizaron un estudio comparativo en niños con asma bronquial sintomática, no sintomática y rinitis alérgica. No pudieron demostrar que la ECP, fuera un marcador importante para severidad de asma bronquial, y tampoco mostró diferencias en los niveles de ésta proteína en asma vs rinitis alérgica.

Sanjiv Sur, y cols (18), realizaron un estudio en el cual 6 pacientes con rinitis alérgica y asma fueron sometidos a test bronquial con ambrosía como alérgeno, y medición de IL-5, neurotoxina derivada de eosinófilos y RANTES en lavados broncoalveolares posteriores. Se obtuvieron niveles elevados de las 3 proteínas, sin embargo RANTES no se asoció con el número de eosinófilos encontrados, como si ocurrió con IL-5.

Lucia Pacifico y cols, encontraron niveles aumentados de RANTES y de IL8 en pacientes con síntomas alérgicos nasales asociados a estridor, que en grupos controles (19).

Lo anterior muestra la inconsistencia que aún persiste en los resultados de estudios similares, quedando un vacío de información precisa del papel que cumplen éstas moléculas en la fisiopatología de la rinitis alérgica. Se puede pensar que estos resultados

pueden ser el reflejo de expresión variable de los mismos según la severidad de la enfermedad.

Reynolds, C Bickel y cols en el 2000, (10) muestran un estudio en el que realizan test de estimulación nasal de ambrosía en 16 pacientes con posterior lavado nasal, y medición de marcadores inflamatorios (histamina, proteína quimiotáctica de eosinófilos, ECP, albúmina) y conteo de células. No encuentran relación entre los síntomas y los niveles de ECP en estos pacientes. En éste estudio los pacientes sólo han sido expuestos a ambrosía. Sin embargo resulta interesante que la mayoría de estudios llevados a cabo en territorio colombiano muestran que nuestros pacientes tienen sensibilidad importante a ácaros, siendo los principales responsables de alergias cutáneas, nasales y pulmonares.

Entre ellos el doctor Marco Reyes, profesor titular de la Universidad de Valle en Cali, Colombia realizó un estudio donde pone en manifiesto lo anterior, en 264 niños con diagnóstico de rinitis alérgica, en quienes realiza test cutáneos observando que en promedio entre el 70 y 84% de ellos, mostraron sensibilidad positiva a ácaros, sobretudo a *Blomia. tropicalis*. (20). En este mismo trabajo, que es de los pocos que se encuentran en nuestro país, se menciona que la rinitis alérgica constituye uno de los motivos más frecuentes de consulta en la práctica médica, convirtiéndolo entonces en un asunto importante para la salud pública, presentando una prevalencia entre 5% y 22% en la población general y una incidencia del 30% si uno de los padres es atópico.

Así mismo en otros artículos se menciona la importancia de estudiar la enfermedad, ya que ha incrementado su frecuencia de aparición, y las morbilidades asociadas a la

enfermedad (sinusitis, asma y otitis media) incrementa los gastos en salud pública en países desarrollados como Estados Unidos (21).

Al igual que en Colombia, la rinitis alérgica también es un asunto de salud pública en el resto de Latinoamérica (22). Se esperaba que esta enfermedad no incrementara de forma importante en países poco industrializados, pero con gran sorpresa se ha evidenciado que los países latinoamericanos tienen la prevalencia más alta del mundo de la enfermedad en el grupo de niños de 6 a 7 años, así como el asma y el eccema que se muestra mas predominante en países con climas tropicales, como Brasil, Panamá, Peru y Costa rica (22). A pesar que nuestro país comparte las mismas características de los mencionados, la falta de estadística, de estudios y registros hacen que esta enfermedad pueda ser sub-registrada o subestimada.

En un intento por realizar un consenso sobre las recomendaciones que se deben tener en cuenta para el diagnostico y tratamiento de la rinitis alérgica, en 1999, durante el taller de la OMS de la ARIA (Rinitis Alérgica y su Impacto sobre el Asma), se hizo un documento de las sugerencias realizadas por un panel de expertos, que fueron basadas en la evidencia mediante una revisión exhaustiva de la literatura disponible hasta diciembre de 1999. Estas recomendaciones son las que actualmente se tienen en cuenta para la clasificación y manejo de la rinitis alérgica, y el documento mencionado ha tenido varias revisiones y actualizaciones, de las cuales la más reciente es la del 2008 que se tuvo en cuenta para el diagnostico clínico en este estudio (23). En la actualización mencionada, la rinitis alérgica se define clínicamente como un trastorno sintomático de la nariz inducido después de la exposición a alergenios por una inflamación mediada por IgE, y se divide en enfermedad intermitente o persistente, para evaluar su frecuencia. La gravedad de la

rinitis alérgica se clasifica como "leve" o "moderada / severa", según afecte la calidad de vida, el sueño, la escuela y el trabajo (23). Lo anterior es lo que se tuvo en cuenta para realizar el diagnóstico clínico de la enfermedad durante el estudio.

La prueba de provocación nasal es una técnica diagnóstica conocida desde hace más de un siglo, ya que en 1873 Backely observó la asociación entre el polen de hierba y la fiebre del heno cuando al introducir éste en el interior de su nariz reprodujo los síntomas típicos de su enfermedad (24). Conociendo que los ácaros del polvo doméstico y entre éstos el *Dermatophagoides pteronyssinus* y *Farinae* constituyen a escala mundial la fuente más importante de alérgenos asociados con la rinopatía alérgica (24), se decidió utilizarlos para el presente estudio.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar, dentro del perfil inmunológico de los pacientes con rinitis alérgica del hospital de la Samaritana, los valores de RANTES, posterior a la exposición al alérgeno determinado a los cuales es sensible el paciente, para evaluar la correlación entre éstos valores con una escala sintomatológica prevista.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar valores de RANTES en lavados nasales de pacientes con diagnóstico de rinitis alérgica crónica de grado variable (intermitente o persistente)
- Determinar por medio de una escala de síntomas el grado de severidad de cada paciente
- Correlacionar los valores obtenidos con una escala de síntomas aplicada a cada paciente

METODOLOGÍA

Tipo de estudio

Descriptivo Correlacional

Población y muestra

Se incluyeron pacientes con diagnóstico de rinitis alérgica atendidos en el Hospital Universitario de la Samaritana durante el periodo de tiempo comprendido entre el 01 Julio del 2010 y el 01 Julio del 2011. Se realizó una búsqueda sistemática de pacientes con diagnósticos de rinitis alérgica no específica, rinitis alérgica estacional, otras rinitis alérgicas y rinitis crónica (CIE 10 CODIGOS: J304,J302,J303,J310), en la base de datos de historias clínicas del hospital, obteniendo los datos de 432 pacientes, de los cuales fueron excluidos las historias con datos incompletos(falta de claridad en el diagnostico, falta de datos de contacto, falta de concordancia entre el diagnóstico y el motivo de consulta) quedando 200 pacientes elegibles.

Posteriormente se aplicaron los criterios de inclusión y exclusión, con lo cual se encontraron 100 pacientes seleccionables. Por medio de una muestra a conveniencia por presupuesto se escogieron 17 pacientes para obtención de 34 muestras que serían analizadas.

CRITERIOS DE SELECCIÓN DE LA MUESTRA

Criterios de Inclusión

- Pacientes con diagnóstico de rinitis alérgica crónica, definidos clínicamente con los criterios de ARIA
- Pacientes que vivan en el domicilio actual mínimo desde hace 1 año
- Pacientes de 18 a 60 años
- Pacientes que firmen el formato de consentimiento.
- Pacientes sensibles a los alergenios escogidos por test prick (Dermatophagoides Pteronyssinus)

Criterios de Exclusión

- Pacientes con asma
- Pacientes con pólipos nasales
- Pacientes con enfermedades reumatológicas
- Pacientes embarazadas
- Pacientes que se encuentren en tratamiento con antihistamínicos, corticoesteroides o antileucotrienos durante el mes anterior al ingreso del estudio
- Cambio de residencia

MÉTODOS ESTADÍSTICOS Y PLAN DE ANÁLISIS

Se buscó encontrar la correlación de las variables descritas, lo cual se puede llevar a cabo mediante el cálculo de un coeficiente de correlación, que nos representará el grado de relación entre las mismas. La medida que se utilizó para el estudio, es el *coeficiente de correlación de spearman*, que es una medida de la correlación o interdependencia entre dos variables aleatorias continuas. Para calcular ρ , los datos son ordenados y reemplazados por su respectivo orden. Oscila entre -1 y +1, indicándonos asociaciones negativas o positivas respectivamente, 0 cero, significa no correlación pero no independencia.

VARIABLES

Tabla #1 Variables

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Clase de variable	Escala operacional/unidad de medición	Relación entre las variables	Nivel de medición
Edad	Años cumplidos	Años cumplidos al ingreso del estudio	Cuantitativa continua	Años	Independiente	Razón
Tiempo de enfermedad	Tiempo en el que el paciente ha sufrido la enfermedad	Tiempo comprendido desde el inicio de síntomas y el ingreso al estudio	Cuantitativa continua	Meses	Independiente	Razón
Genero	Genero que identifica al paciente	Características que diferencian la identidad femenino de masculino	Cualitativa	1. Femenino 2. Masculino	Independiente	Nominal
Severidad	Clasificación de severidad de la enfermedad	Clasificación según el ARIA	Cualitativa	1. Leve 2. Moderada-severa	Dependiente	Ordinal
Frecuencia	Clasificación de la frecuencia de síntomas de la enfermedad	Clasificación según el ARIA	Cualitativa	1. Intermitente 2. Persistente	Dependiente	Ordinal
Medición de RANTES	Valor de RANTES obtenido	Valor numérico de cantidad de	Cuantitativa continua	nanogramos/ml	Dependiente	Razón

	mediante ELISA	RANTES en la muestra de lavado nasal				
--	----------------	--------------------------------------	--	--	--	--

1. Medición de RANTES en pg/ml : variable numérica determinada por ELISA
2. Escala de severidad de síntomas: Variable nominal para la Clasificación de la frecuencia sintomatológica mediante cuestionario ARIA

Será identificado así:

1- Intermitente

2- Persistente

Intermitente hará referencia a un paciente que refiere síntomas por menos de 4 días a la semana o por menos de 4 semanas.

Persistente hará referencia a un paciente con síntomas por más de 4 días a la semana o por más de 4 semanas.

3. Variable nominal para la Clasificación de la severidad sintomatológica mediante cuestionario ARIA

Será identificado así:

1- Leve

2- Moderada-Severa

En donde leve hará referencia a un paciente con sueño normal, actividades diarias, deportes, y de ocio normal, trabajo y actividad escolar normales, no existen síntomas molestos.

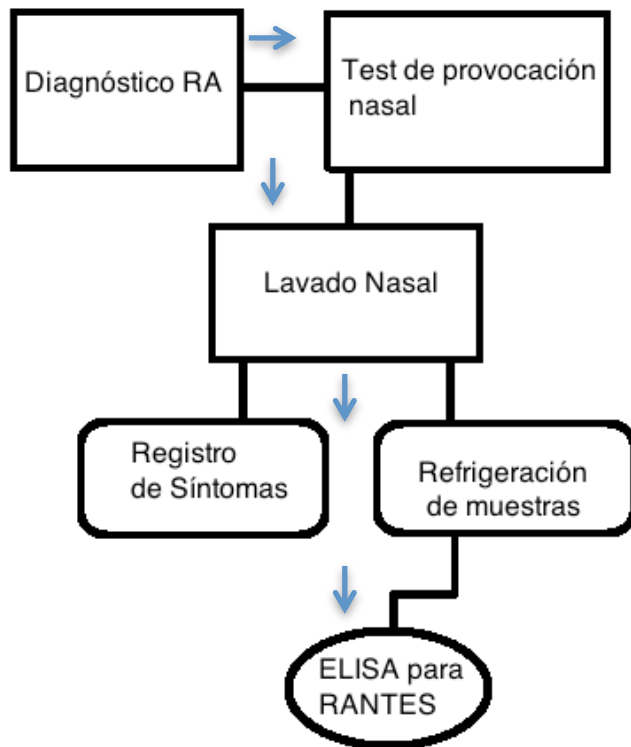
Moderada a severa hará referencia a uno o más de los siguientes puntos: Sueño anormal, interferencia en las actividades diarias, deportes, ocio, o interferencia en el trabajo o la escuela con síntomas molestos.

TÉCNICA DE RECOLECCIÓN, PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

Técnicas de Recolección de la información y datos (instrumento)

1. Para la recolección de la información se elaboró un formato para el registro de síntomas de cada paciente (Anexo #2)
2. Se realizó el test de provocación nasal con DERMATOPHAGOIDES PTERONYSSINUS (en fosa nasal derecha) y DERMATOPHAGOIDES FARINAE (en fosa nasal izquierda). Posteriormente se realizaron lavados nasales para hacer mediciones de los mediadores mencionados durante el estadio temprano de la enfermedad (15 a 20 minutos). El diagrama del proceso que se llevó a cabo con cada paciente se muestra en la Figura #1.
3. Se realizaron mediciones de correlación entre las variables mencionadas con la metodología escogida para poder obtener los resultados esperados.
4. Se realizaron modificaciones al formato de acuerdo a los hallazgos no descritos en la literatura y a las nuevas clasificaciones para así complementar el instrumento de trabajo.
5. Posteriormente se tabularon los datos en el programa Excel para después realizar el análisis estadístico en el programa SPSS versión 15.0.

Figura #1 Proceso



MATERIALES Y METODOS

Provocación Nasal:

La provocación nasal puede realizarse con agentes inmunológicos (alergenos) y no inmunológicos(histamina, metacolina, aire frío, etc). Las evaluaciones con alergenos ayudan a evaluar el papel de anticuerpos IgE específicos y la activación de mastocitos en la rinitis alérgica. Los estímulos no inmunológicos nos ayudan para conocer la reactividad de la mucosa nasal. El material de provocación se coloca en forma de polvo seco o preparaciones líquidas, sin embargo las últimas producen una mayor dispersión

del extracto. Así mismo el vehículo no debe producir ningún tipo de respuesta en la mucosa de la nariz. La provocación se realiza siempre comenzando con una serie de concentraciones pequeñas y se va incrementando en 5 veces las concentraciones siguientes.

La evaluación de la respuesta se realiza inicialmente realizando una observación de los síntomas que refiere el paciente entre los cuales se incluyen rinorrea, prurito nasal, estornudos y cambio en las secreciones nasales, así como en el flujo de aire a través de la nariz. Estos síntomas pueden medirse por medio de una escala numérica o utilizando una escala análoga visual.

La provocación nasal se llevó a cabo con un kit de provocación de laboratorios Leti® para *Dermatophagoides Pteronyssinus* Y *Dermatophagoides Farinae*, con una potencia Biológica de 100Hep/ml.

La recolección de la muestra se realizo con lavado nasal, con SSN 10 cc a 37°C los cuales se obtuvieron por irrigación y succión con jeringa de 10 cc .

1. Se conservaron las muestras obtenidas de los lavados en refrigeración hasta completar la muestra completa del estudio. Se realizaron las mediciones de la citoquina, a partir de los lavados nasales, con un Kit de Elisa específico para RANTES (THERMO SCIENTIFIC EHRNTS5®), siguiendo las recomendaciones del inserto del fabricante se realizó el procesamiento de las muestras en el laboratorio de inmunología. Así, las muestras se llevaron a: 1. Centrifugado, separación e Incubación, 2. Incubación del reactivo de anticuerpos con biotina, 3. Solución de preparación e incubación con Estreptavidina-HRP, 4. Incubación del

sustrato y el paso de parada, 5.Determinacion de absorbancias, 6. Generación de curva de resultados.

Imagen #1 Lavado Nasal

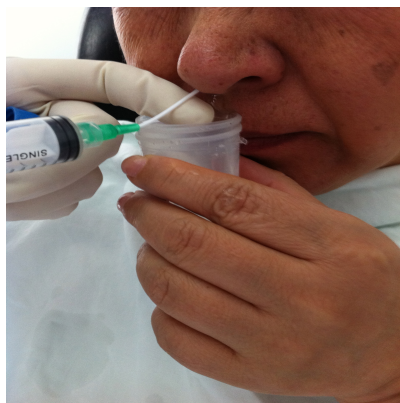


Imagen #2 Preparación de las muestras



Imagen #3 Kit de ELISA para detección de RANTES



Imagen #4 Almacenamiento de las muestras listas para procesar

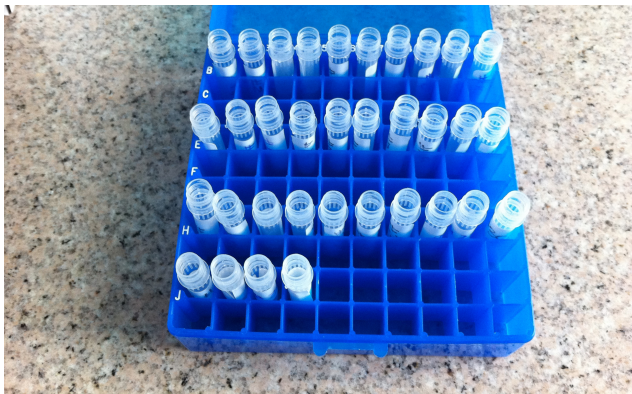
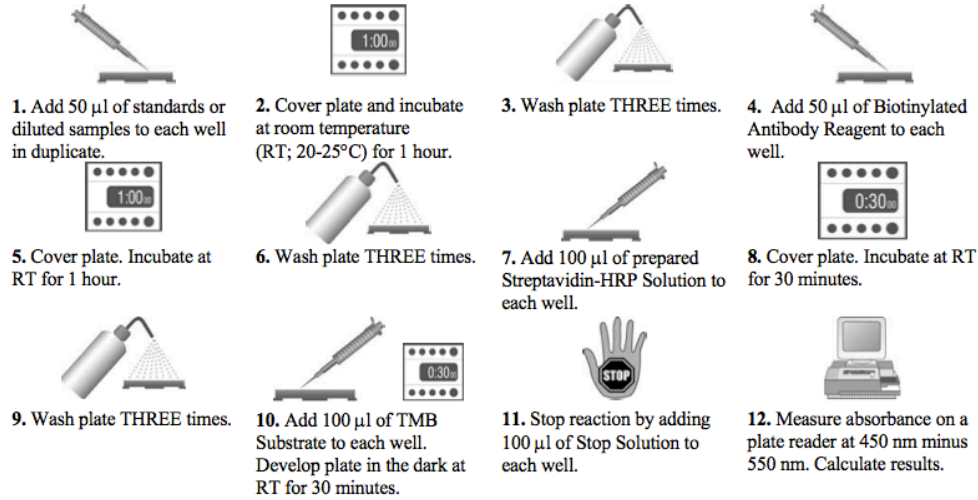


Imagen #6 Inserto para Kit de Elisa

Procedure Summary



Análisis y control de Sesgos

En este estudio se contempla la posibilidad de presentar los siguientes sesgos y errores, motivo por el cual la siguiente tabla mostrará la estrategia empleada para control de sesgos.

Tabla#2 Control de Sesgos

Error o Sesgo Identificado	Descripción	Control del error o sesgo
Sesgos durante la toma de datos	Elección incorrecta del sistema de medida o por estimación subjetiva	Uso de un cuestionario concreto, sin posibilidad de respuestas subjetivas, fácil y corto

Sesgos de medición	Cuando la forma de medida no está estandarizada	El inserto del kit de RANTES trae para control de sesgos, el uso de controles positivos y negativos, al igual que una curva de equivalencia (valores estándares)
Sesgo de análisis de información	Errores sistemáticos por transcripción incorrecta de la información a la base de datos (codificaciones erróneas, valores no aceptados por el campo de una base de datos)	Se digitaron los resultados en dos tablas para evitar este sesgo. Una por la bacterióloga y la segunda por la investigadora.

ETICA

Este trabajo fue presentado y aprobado por el comité de ética del Hospital de la Samaritana, y cumple con los principios básicos y operacionales de la declaración de Helsinki.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Tabla #3 Cronograma de actividades

DURACION (mes - año)	Planteamiento del problema y diseño del protocolo	Presentación al Comité Universitario	Presentación al Comité Científico y Ético del Hospital	Recolección de la información	Análisis de la información	Presentación del trabajo para corrección	Presentación del trabajo final
6 Meses (Jun. 2009 a Dic. 2009)							
2 Meses (Ene 2010 a Feb. 2010)							
6 Meses (Mar. 2010 a Ago. 2010)							
12 Meses (Sep 2010 a Ago 2011)							
4 Meses (Sep. 2011 a Dic. 2011)							
3 Meses (Ene. 2012 a Mar. 2012)							
3 Meses (Abr. 2012 a Jun. 2012)							

PRESUPUESTO Y PERSONAL

En el proceso de recolección y análisis de datos intervendrán el investigador y tutores.

Tabla# 4 Presupuesto y Personal

DESCRIPCION	RUBRO
PERSONAL	100.000
MATERIALES E INSUMOS	
human RANTES Instant ELISA	1.400.000
CORRESPONDENCIA PAPELERIA	300.000
SUBTOTAL	1.800.000
IMPREVISTOS	300.000

TOTAL	2.100.000
-------	-----------

RESULTADOS

El grupo de pacientes estudiados lo conformaron 17 pacientes, de los cuales se obtuvieron 34 muestras de lavado nasal (1 por cada fosa nasal). La edad mínima fue de 19 años, y la máxima de 56 con una media de 33,5 +/- 10,7. El género más frecuente fue el femenino, correspondiente al 70,6% de los pacientes.

La escala ARIA, de los síntomas de los pacientes, fue obtenida mediante un formato de recolección de datos, junto con el consentimiento informado.

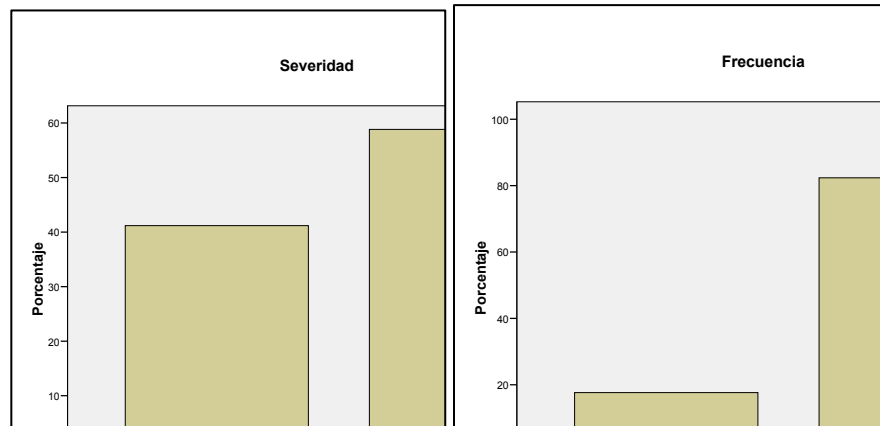
Los resultados obtenidos muestran que el grupo más frecuente fue el de los pacientes con rinitis alérgica moderada-severa persistente, seguido de el grupo de leve-persistente, moderada-severa intermitente y por ultimo leve-intermitente (Tabla #5).

TABLA #5: Porcentaje de pacientes en cada grupo

Clasificación ARIA	Porcentaje de Pacientes
Leve-Intermitente	5,9%
Leve-Persistente	35,3%
Moderada-Severa-Intermitente	11,8%
Moderada-Severa-Persistente	47,1%

Los pacientes mostraron mayor tendencia a pertenecer al grupo de síntomas de mayor severidad y frecuencia.(Figuras #1 y 2)

Figura #2 Y #3: Muestra la distribucion de la severidad y la frecuencia de los síntomas de los pacientes

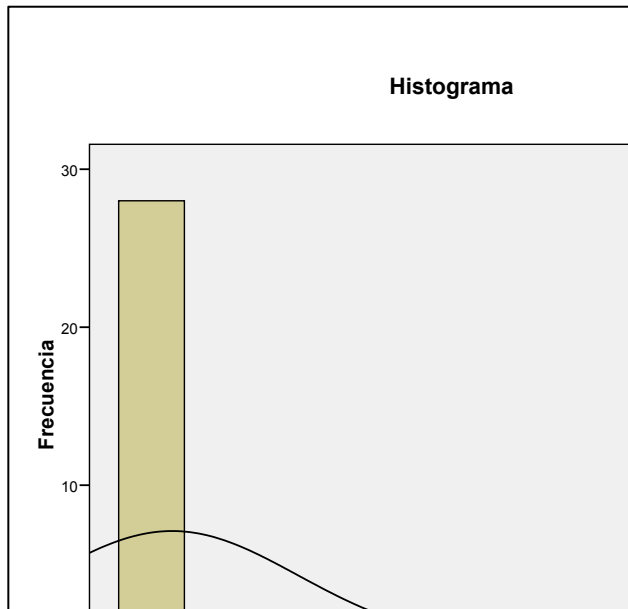


Los valores de RANTES encontrados en los lavados nasales fueron obtenidos de 7 muestras (20,5% del total de muestras). Estos valores tuvieron un promedio de 8,1 pg/ml (+/- 19DS).

En éste punto se debe aclarar que las muestras se montaron en 2 tiempos; durante el primer tiempo se obtuvieron 3 resultados positivos. Como el inserto trae las recomendaciones para manejo de muestras en sangre y orina únicamente, se solicitó soporte técnico al fabricante, quienes colaboraron con bibliografía adicional de autores que utilizaron el kit en lavados nasales y bronco-alveolares(8) . En el segundo montaje se aumentó la velocidad y el tiempo de centrifugado, obteniendo los restantes valores positivos.

La correlación de los valores de RANTES con la escala de Síntomas de los pacientes del estudio, mostro una asociación muy débil ($R_s=0.186$, $P=0,293$) (Figura #4)

Figura #4 Muestra la asociación debil entre los niveles de RANTES y la escala clinica



No hubo diferencias entre los síntomas ni en los resultados de RANTES producidos por uno u otro alérgeno (Dermatophagoides Pteronyssinus o Farinae).

La mayoría de los pacientes presentaron síntomas durante la provocación nasal, excepto 2 pacientes (11,8%). El resto del grupo mostro síntomas que fueron clasificados como leves, si eran tolerables (41,2%), o severos si requería la administración de un antihistamínico oral, por ser muy molestos para el paciente (47,1%).

Los síntomas que se presentaron en éstos pacientes fueron los estornudos, prurito nasal, rinorrea hialina y obstrucción nasal. Menos frecuentemente se presentó prurito ótico y faríngeo, sensación de ahogo y tos seca. No se presentaron síntomas graves como disnea, laringoespasmo, broncoespasmo, o shock anafiláctico.

DISCUSION

En el presente estudio se buscó encontrar la correlación entre los niveles de RANTES y la severidad en la escala clínica del ARIA de pacientes con rinitis alérgica. Los resultados muestran que la correlación entre estas dos variables, es muy débil, dado su alto grado de dispersión (Rangos muy amplios; coeficiente de correlación de Spearman de 0.1).

Estudios anteriores han mostrado que la citoquina RANTES, incrementa el número de eosinófilos, linfocitos y basófilos en la mucosa nasal cuando se expresa en ella (3,4,18).

Por consiguiente se desencadena una respuesta inflamatoria que clínicamente se ve reflejada en el paciente con síntomas. Durante la provocación nasal en los pacientes incluidos en el estudio se observó una respuesta sintomatológica en forma variable que fue registrada en los resultados. En futuros estudio sería ideal corroborar el aumento de la eosinofilia de las muestras nasales con estudios en microscopio, lo cual no se realizó por falta de presupuesto.

Lo mencionado anteriormente se observa en estudios como el de los doctores Linden, Svensson y cols, encontraron que en estaciones de predominio alérgico, no se encontraban valores importantes de RANTES o de Il-5, pero sí se observaron incrementos en los niveles de eosinófilos.(23)

K Rajakulasingam y cols, encontraron que en cinco de siete pacientes riniticos que fueron provocados intranasalmente, el aumento de RANTES era positivo de 2 a 4 h post-

exposición ($p < 0,05$). No se observaron cambios en los sujetos normales. (7). En el presente estudio por motivo económico no se realizó una comparación con un grupo control, que hubiera mejorado la información con respecto a el comportamiento de los pacientes alérgicos.

En otro importante estudio, de Pacifico y cols, se buscó la asociación entre las concentraciones de RANTES en 14 pacientes con sibilancias y 11 pacientes con síntomas de virosis de VAS, encontrando que, las concentraciones de RANTES fueron significativamente mayores en las muestras de pacientes con sibilancias agudas de que en los de los pacientes con enfermedad aguda del tracto respiratorio superior únicamente y que en las muestras de control. (19). Como se menciona anteriormente en este estudio no se realizaron comparaciones con sujetos control ni con comorbilidades como el asma, lo cual sería benéfico a futuro ya que los pacientes asmáticos fueron excluidos en el estudio actual y podría mostrar aumento de los niveles de citoquinas.

Así mismo Fuentes-Beltran y cols (9) realizaron un estudio donde encontraron niveles elevados de citoquina CCL5 en 18 pacientes con asma y rinitis alérgica, tanto en los niveles de base como en los niveles obtenidos posterior a la provocados con aspirina. Sin embargo estas mediciones se realizaron durante la fase tardía de la respuesta inflamatoria.

En el 2004 Jeong Joong Kim, Jung Hun Lee y cols, realizaron un estudio para determinar si los dos alelos de la región promotora de RANTES (403^a y 28G), mostraban algún comportamiento independiente alterado, encontrando que los factores ambientales y étnicos son de gran importancia, ya que existía una frecuencia marcadamente superior en el alelo 403A de RANTES en personas afroamericanas a comparación con las caucásicas y asiáticas, y éstas variaciones pueden ser asociadas a dermatitis atópica en la raza negra

(25). Este estudio nos muestra la importancia de los factores étnicos y raciales que son primordiales en alergia, destacando que las poblaciones latinoamericanas seguramente no son comparables con los resultados obtenidos por autores Norteamericanos o europeos.

Los resultados de los estudios anteriormente mencionados muestran la inconsistencia que aún persiste en los resultados de estudios similares, quedando un vacío de información precisa acerca del papel que cumplen éstas moléculas en la fisiopatología de la rinitis alérgica. Se puede pensar que estos resultados pueden ser el reflejo de la expresión variable de los mismos según la severidad de la enfermedad, por esta razón se decide hacer el estudio, con el objetivo de determinar si la severidad clínica, tenía que ver con los valores de la citoquina. Sin embargo según los resultados obtenidos la correlación es muy débil, por lo menos en la fase temprana de la enfermedad. Habría que ver si los niveles se positivizan a medida que transcurren las próximas horas a la exposición.

El otro factor que pudo alterar los resultados es la forma de recolección de las muestras. No hay un consenso en cuanto al método más efectivo de recolección de un lavado nasal. En este caso se utilizó un lavado nasal mediante irrigación y succión con jeringa y yelco estéril, sin embargo hay estudios que han mostrado que el uso de dispositivos especiales pueden aumentar la sensibilidad de detección de citoquinas y otras proteínas (26). Sin embargo estos dispositivos no se consiguen en nuestro medio, por lo menos de primera mano. Pensamos que debe haber una estandarización adecuada de la forma de toma de lavados nasales.

Existen muy pocos estudios en nuestro país sobre respuestas inmunológicas en rinitis alérgica, consideramos que el presente es el primer estudio que busca, encontrar valores inmunológicos de éste grupo de pacientes, para asociarlo común a escala clínica.

Es de gran importancia estudiar los niveles de múltiples citoquinas y proteínas en nuestro medio, para poder tener nuestra propia estadística. Adicionalmente en la literatura se encuentra que la mayoría de éste tipo de trabajos y observaciones, se llevan a cabo en países con estaciones climáticas marcadas (Europa o Norteamérica), que pueden modificar los alérgenos del medio ambiente, no así nuestra población.

Por lo anterior es importante profundizar en la detección de marcadores inflamatorios serológicos como el aquí estudiado para nuestra población y aplicable a países tropicales.

El doctor Marco Reyes, profesor titular de la Universidad de Valle en Cali, Colombia realizó un estudio donde pone en manifiesto que, en 264 niños con diagnóstico de rinitis alérgica, con test cutáneos realizados, se observa que en promedio entre el 70 y 84%, muestran sensibilidad positiva a ácaros, en éste grupo el más importante fue el *Dermatophagoides Pteronyssinus* (84%). La respuesta menos importante fue la respuesta a pólenes y hongos. (18). Teniendo en cuenta datos como el anterior fue que se decidió tomar como alérgenos a los ácaros en nuestro estudio, ya que la mayoría de los pacientes con rinitis alérgica en nuestro medio muestran sensibilidad clínica a ellos, de ésta forma se aumentaba la posibilidad de obtener resultados positivos en las mediciones de RANTES.

El presente estudio deja una puerta abierta a la investigación en el área de inmunología de los pacientes con rinitis alérgica, las limitantes de éste estudio fueron principalmente de presupuesto y metodología. Se recomienda en futuros estudios realizar búsquedas que nos lleven a determinar el perfil inmunológico de nuestros pacientes y así enriquecer la estadística actual.

Limitantes

- Las limitantes de éste estudio fueron principalmente de presupuesto y metodología (la metodología ideal para el estudio Hubiese sido casos y controles pero no se pudo realizar por presupuesto)

CONCLUSIONES

Dentro del grupo de pacientes con rinitis alérgica del presente estudio, se encontró una positividad en los valores de la citoquina CCL5 en los lavados nasales del 20% de ellos.

El coeficiente de correlación obtenido, muestra que la correlación entre los niveles de RANTES y la severidad en la escala clínica del ARIA en estos pacientes, es débil.

RECOMENDACIONES

- En futuros estudios se recomienda determinar si en fase tardía se incrementan los valores de la citoquina y si hay correlación, podemos buscar otra citoquina que se correlacione con los síntomas en la fase temprana de la enfermedad, para poder determinar el pronóstico clínico del paciente.
- De igual forma se recomienda realizar un futuro estudio con múltiples mediciones a diferentes tiempos durante las fases tempranas y tardías para poder determinar el momento ideal de liberación de ésta o varias citoquinas

- Finalmente se recomienda en futuros estudios para estandarizar la forma de toma de muestras nasales, o comparaciones de las diferentes formas de toma de muestra

REFERENCIAS

1. J. Bousquet, N. Khaltaev, A. A. Cruz, J. Denburg, W. J. Fokkens, A. Togias, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 Update (in collaboration with the World Health Organization, GA2LEN* and AllerGe. Allergy 2008; 63 (Suppl. 86): 8–160
2. Rinitis Alérgica; Colegio Mexicano de Alergia, Asma e Inmunología Pediátrica (CoMAAIPe). <http://compedia.org.mx/archivos/normas/rinitis.pdf>
3. Akefeh Ahmadi Afshar, MD; Daryoosh Taghiloo, MD; Abdolreza Esmailzadeh, PhD; Behnaz Falakaflaki, MD. Nasal Eosinophilia As A Marker For Allergic Rhinitis: A Controlled Study Of 50 Patients. ENT-Ear, Nose & Throat Journal March 2012
4. E. Rojas Ramos, A.F. Avalos, L. Pérez Fernandez, F. Cuevas Schacht, E. Valencia-Maqueda and L.M. Terán. Role of the chemokines RANTES, monocyte chemotactic proteins-3 and -4, and eotaxins-1 and -2 in childhood asthma. European Respiratory Journal 2003; 22:310-31
5. Marianne Frieri, M.D., Ph.D. Inflammatory Issues in Allergic Rhinitis and Asthma. Allergy and Asthma Proc. May-June 2005, Vol. 26, No. 3
6. Piotr Kuna, Rafeul Alam, Urszula Ruta, and Pawel Gorski. RANTES Induces Nasal Mucosal Inflammation Rich in Eosinophils, Basophils, and Lymphocytes In

- Vivo. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine
1998;157:873–879
7. K Rajakulasingam, Q Hamid, F O'Brien, E Shotman, P J Jose, T J Williams, M Jacobson, J Barkans and S R Durham. RANTES in human allergen-induced rhinitis: cellular source and relation to tissue eosinophilia. American Journal of respiratory and critical care medicine. 1997 Feb;155(2):696-703
 8. AliEmad & YasamanEmad. Relationship Between Eosinophilia and Levels of Chemokines (CCL5 and CCL11) and IL-5 in Bronchoalveolar Lavage Fluid of Patients with Mustard Gas-induced Pulmonary Fibrosis. Journal of Clinical Immunology (2008) 28:298–305
 9. A. Fuentes-Beltrán, R. Montes-Vizuet, E. Valencia-Maqueda, M. C. Negrete-García, M. de L. García-Cruz and L. M. Teran. Chemokine CC-ligand 5 production and eosinophil activation into the upper airways of aspirin-sensitive patients. Clinical & Experimental Allergy, 2009. 39, 491–499
 10. Reynolds, C.Bickel, D.Proud. RP Schleimer, RG Hamilton, et al. Relationships Between Symptoms, Mediators, and Cells in the Late-Phase Reaction to Nasal Antigen Challenge. Journal of Allergy And Clinical Immunology., VOLUME 105, NUMBER 1, PART 2.
 11. Maciej Kupczyk, Zofia Kurmanowska, Izabela Kuprys-Lipinska , Magorzata Bochenska-Marciniak , Piotr Kuna. Mediators of inflammation in nasal lavage from aspirin intolerant patients after aspirin challenge. Respiratory Medicine (2010) 104, 1404e1409
 12. Nobuhisa Terada, Nanako Hamano, Woo Jeong Kim, Koichi Hirai, Toshiharu Nakajima et al. The Kinetics of Allergen-induced Eotaxin Level in Nasal Lavage

- Fluid. Its Key Role in Eosinophil Recruitment in Nasal Mucosa. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. Vol 164. pp 575–579, 2001
13. Bitá Shakoory, S. Matthew Fitzgerald, Steven A. Lee et al. The Role Of Human Mast Cell-Derived Cytokines in Eosinophil Biology. Journal of Interferon and Cytokine Research. 24:271-281.2004
 14. Nielsen LP, Bjerke T, Christensen MB, Skamling M, Peterson CGB, Mygind N, Dahl R. Eosinophil markers in seasonal allergic rhinitis. Intranasal fluticasone propionate inhibits local and systemic increases during the pollen season. Allergy 1998; 53: 778-785.
 15. Piotr Kuna, Mark Lazarovich, and Allen P. Kaplan Stony Brook, N.Y. Chemokines in seasonal allergic rhinitis. Journal of Allergy And Clinical Immunology. Volume 97, No 1, Part 1.
 16. Alexander C. Ferguson, MB, ChB, FRCP(C), Radana Vaughan, BSc, Huguette Brown, RT, and Carol Curtis, RT. Evaluation of serum eosinophilic cationic protein as a marker of disease activity in chronic asthma. Journal of Allergy And Clinical Immunology. January 1995
 17. Sanjiv Sur, MD, a Hirohito Kita, MD, b Gerald J. Gleich, MD, Thomas Chenier, PhD, c and Loren W. Hunt, MD a Greenville, N.C., and Rochester, Minn. Eosinophil recruitment is associated with IL-5, but not with RANTES, twenty-four hours after allergen challenge. Journal of Allergy And Clinical Immunology, VOLUME 97, NUMBER 6
 18. Marco A Reyes. Profesor Titular, Departamento de Pediatría, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia. Colombia Médica, 1996; 27: 143-145 - ISSN 1657-9534

19. Lucia Pacifico, Metello Iacobini, Franca Viola, Beate Werner, Giovanna Mancuso, and Claudio Chiesa. Chemokine Concentrations in Nasal Washings of Infants with Rhinovirus Illnesses. *Clinical infectious diseases* 2000 Sep;31(3):834-8
20. Jonathan A. Bernstein. Allergic and mixed rhinitis: Epidemiology and natural history. *Allergy Asthma Proc* 31:365–369, 2010
21. Baena CCE, Solé D, González DSN, Zernotti ME, Sisul JC, Sánchez BM, Guzmán MA, Ivancevich JC, Cepeda A, Rodríguez PN, Gereda J, Cruz A, Croce VH, Khaltayev N, Bousquet J Actualización de rinitis alérgica y su impacto en el asma (ARIA 2008). *La perspectiva latinoamericana Revista Alergia México* 2009; 56 (2)
22. Jean Bousquet, Nikolai Khaltayev, Alvaro A Cruz, Judah Denburg, Wytske Fokkens, Alkis Togias, Torsten Zuberbier, et al. ARIA (Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma) 2008 Update. In collaboration with the World Health Organization, GA2LEN and AllerGen. 2008
23. M. Linden C. Svensson M. Andersson L. Greiff E. Andersson J.A. Denburg C.G.A. Persson. Circulating eosinophil/ basophil progenitors and nasal mucosal cytokines in seasonal allergic rhinitis. *Allergy* 1999, SR212±219
24. Alma Rosa Moreno Morales, Alicia Sánchez Rodríguez, Catalina Yrarragorri Toledo, Anselmo Abdo Rodríguez. Asociación entre el Dermatophagoides pteronyssinus y la rinitis alérgica. *Alergia, asma e inmunología pediátrica*. Vol. 8, Núm. 1 • Enero-Febrero 1999
25. Jeong Joong Kim, PhD; Jung Hun Lee, MD, PhD; Chul Ho Jang et al. Chemokine

RANTES Promoter Polymorphisms in Allergic Rhinitis. *Laryngoscope*, 114:666–669, 2004

26. Riechelmann H, Deutschle T, et al. "Marcadores Biológicos en Secreción Nasal". *European Respiratory Journal* 21:600-605, 2003

ANEXOS

1. Consentimiento Informado

**HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LA SAMARITANA
DEPARTAMENTO DE OTORRINOLARINGOLOGÍA
Grupo de Investigación de Otorrinolaringología**

PROYECTO: Asociación de la severidad clínica con los niveles de RANTES en rinitis alérgica de pacientes sensibles al *Dermatophagoides Pteronyssinus*.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: María Carolina Pérez Perdomo

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Día/mes/año: ____/____/____

Código del Sujeto: _____

Este documento explica en qué consiste este estudio de investigación. Es importante que usted lea cuidadosamente esta información y que luego decida si desea participar o no como voluntario.

PROPÓSITO:

El propósito de esta investigación es determinar los valores de una proteína (citoquina RANTES) que participa en el proceso de respuesta inflamatoria que está involucrada en las respuestas alérgicas de los pacientes con rinitis alérgica. Estos valores se determinarán después de la exposición del paciente a una sustancia a la cual es sensible, con el fin de determinar si existe asociación entre estos valores y los síntomas que usted presenta.

DURACIÓN:

El tiempo que cada sujeto de estudio otorgará para esta investigación será tan sólo 15 a 30 minutos. El tiempo disponible para la recolección de los datos es 12 meses. Los resultados del estudio se reportarán en Julio de 2012.

PROCEDIMIENTOS:

Los procedimientos que se aplicarán a usted como sujeto en este estudio incluyen:

- Prueba de sensibilidad a los ácaros (*Dermatophagoides Pteronyssinus*), que pone en contacto al paciente con el alérgeno, con un pinchazo en la piel del antebrazo.
- Toma de una muestra de lavado nasal, con suero fisiológico, para determinar los valores de la Citoquina.
- Responder una breve encuesta de síntomas, tratamientos y estilo de vida

POSIBLES RIESGOS O INCOMODIDADES:

Síntomas graves (anafilaxia) son excepcionales. Los posibles riesgos leves o incomodidades asociadas con su participación en este estudio incluyen:

- Leve dolor al momento de la prueba de sensibilidad a ácaros
- Leve incomodidad al momento del lavado nasal; Sensación de agua salada
- De llegarse a presentar los síntomas de una reacción alérgica serían: Reacción alérgica en piel (picor, enrojecimiento), reacción alérgica en nariz (picor nasal, estornudos, secreción nasal)

BENEFICIOS:

Los beneficios para usted por su participación en el estudio son:

- Determinar el valor de la citoquina RANTES en usted sin costo
- Determinar el grado de severidad de su enfermedad de base (Rinitis alérgica)
- Determinar si usted es sensible o no a los ácaros, mediante la prueba de sensibilidad sin costo, lo que lo ayudara en el manejo ambiental durante el tratamiento de su enfermedad

CONFIDENCIALIDAD:

Se realizará todo esfuerzo para asegurar que los hallazgos de este estudio sean confidenciales. Copias de los documentos de este estudio serán conservados en el archivo del Comité de Investigaciones del Hospital Universitario de La Samaritana por un período mínimo de tres años.

Las muestras nasales serán desechadas al finalizar el estudio y no podrán ser utilizadas para ningún análisis diferente al propuesto. Los hallazgos de este estudio podrán ser publicados o presentados en reuniones sin revelar su nombre o identidad. Se protegerán sus derechos y privacidad; no obstante los investigadores asociados con esta investigación tendrán acceso a los documentos e información relacionados con este estudio. Su expediente será completamente confidencial según lo indica la Ley. Este no será compartido con otras personas a menos que sea exigido por la Ley o de acuerdo con las especificaciones mencionadas anteriormente.

PARTICIPACION VOLUNTARIA:

Su participación en este estudio de investigación es absolutamente voluntaria, por lo tanto, no habrá ningún tipo de remuneración económica o compensación por su participación. Usted puede rehusarse a participar o puede retirarse del estudio en cualquier momento que lo desee después de haber ingresado (llamando a la doctora María Carolina Pérez al teléfono 4077075 extensión 10040). Se le informará inmediatamente si cualquier hallazgo de este estudio podría tener impacto en su salud. **Si usted está embarazada no podrá participar en este estudio.**

Su firma confirma que ha leído y comprendido este documento. En caso de participar, recibirá una copia firmada de este consentimiento informado. A usted se le ha dado y se le continuará dando la oportunidad de hacer preguntas y discutir con los investigadores su participación.

- Usted ha elegido participar en este proyecto de investigación libre y voluntariamente y en constancia firma el presente documento:

FIRMA DEL SUJETO VOLUNTARIO

Día/mes/año: ____/____/____

FIRMA DE TESTIGO

Día/mes/año: ____/____/____

FIRMA DE TESTIGO

Día/mes/año: ____/____/____

FIRMA DEL INVESTIGADOR

Día/mes/año: ____/____/____

- Usted ha decidido **NO** participar en este proyecto de investigación y en constancia firma:

FIRMA DEL SUJETO VOLUNTARIO

Día/mes/año: ____/____/____

2. Formato estudio de rinitis alérgica

NOMBRE:-

EDAD: _____

OCUPACION: _____

TELEFONO: _____

PROCEDENCIA: _____

Duración de la enfermedad: _____

SINTOMAS:

Se tendrán en cuenta los siguientes síntomas: Rinorrea, obstrucción nasal, picor nasal, estornudos

Clasificación de la rinitis alérgica

